



UJI EFEKTIVITAS LARVASIDA
EKSTRAK ETHANOL DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*)
TEHADAP LARVA *Aedes aegypti*

LAPORAN AKHIR PENELITIAN
Diajukan untuk Memenuhi Tugas dan Melengkapi Persyaratan
Dalam Menempuh Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Oleh:
Ashry Sikka Aradilla
G2A 005 028

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG

2009

HALAMAN PENGESAHAN

UJI EFEKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETHANOL DAUN MIMBA

(*Azadirachta indica*) TEHADAP LARVA *Aedes aegypti*

yang disusun oleh:

ASHRY SIKKA ARADILLA

G2A 005 028

telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 22 Agustus 2009 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

TIM PENGUJI LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Ketua Penguji,

Drs. Gunardi, Apt. MS.

NIP. 131673428

Penguji,

Pembimbing,

Dra. Endang Sri Sunarsih Apt. M. Kes

NIP. 131474328

Drs. Soehardjono Apt. MSi.

NIP. 130937451

Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Larva *Aedes aegypti*

Ashry Sikka Aradilla¹, Suhardjono²

Abstrak

Latar belakang : Tanaman Mimba (*Azadirachta indica*) merupakan tanaman obat yang memiliki berbagai macam kegunaan. Salah satu kegunaannya sebagai biopestisida (larvasida). Daya larvasida daun mimba berasal dari kandungannya yang disebut azadirachtin dan salanin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas daya larvasida daun mimba dinilai dari LC_{50} dan LT_{50} , serta dari hubungan antara konsentrasi dan jumlah kematian larva persatuan waktu (kecepatan kematian).

Metode : Digunakan 375 sample Larva *Aedes aegypti* yang telah mencapai instar III/IV, dibagi menjadi 5 kelompok uji yaitu 0 g/L (kontrol), 2,5 g/L, 5 g/L, 10 g/L, dan 20 g/L. Masing-masing kelompok berisi 25 larva dalam 500 ml larutan ekstrak ethanol daun mimba. Dilakukan replikasi 3 kali dan diberi makan fish food selama penelitian. Data yang diperoleh dari pengamatan waktu kematian Larva *Aedes aegypti* setiap 12 jam selama 7 hari (168 jam). LC_{50} dan LT_{50} ekstrak ethanol daun mimba didapatkan dari analisa probit dan hubungan antara konsentrasi dan kecepatan kematian diuji dengan uji korelasi Pearson (sebaran data normal) serta uji korelasi Spearman (sebaran data tidak normal, nonparametrik).

Hasil : Nilai LC_{50} 8,326 g/L dan LT_{50} 103,206 jam. Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov, didapatkan hasil sebaran data yang normal ($p \geq 0,05$) dari konsentrasi 10g/L ($p=0,070$) dan 20g/L ($p=0,200$), sedangkan konsentrasi 2,5g/L ($p=0,000$) dan 5g/L ($p=0,020$) didapatkan sebaran data tidak normal ($p \leq 0,05$). Uji Korelasi Pearson untuk konsentrasi 10g/L ($p=0,832$) dan 20g/L ($p=0,108$) didapatkan perbedaan yang tidak bermakna ($p \geq 0,05$). Dilakukan Uji Korelasi Spearman pada konsentrasi 2,5g/L ($p=0,020$) memiliki perbedaan bermakna ($p \leq 0,05$), pada konsentrasi 5g/L ($p=0,666$) memiliki perbedaan yang tidak bermakna.

Kesimpulan : Ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) tidak efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti*. Meskipun memiliki nilai LC_{50} dan LT_{50} tetapi tidak ada hubungan yang bermakna menurut uji statistik antara peningkatan konsentrasi ekstrak dengan jumlah larva yang mati persatuan waktu.

Kata kunci : Larvasida, *Aedes aegypti*, *Azadirachta indica*

1) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

2) Staf pengajar bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Larvaside Effectiveness Test of Neem Leaf Ethanol Extract (*Azadirachta indica*) on *Aedes aegypti* Larvae

Ashry Sikka Aradilla¹, Suhardjono²

Abstract

Background : Neem (*Azadirachta indica*) has so many benefit as a herbal medicine. Larvaside is one of its utility. Since neem has some active component, azadirachtine and salalnine, so that neem leaf has larvaside ability. The purpose of this experiment is finding out the effectiveness neem larvaside ability which gain from LC₅₀ and LT₅₀ value, also from the corelation between concentration and the rate of larva mortality per 12 hours (mortality speed).

Method : 375 samples of *Aedes aegypti* larvae instar III/IV are used for this experiment. Divided in to 5 groups of experiment, which is 0 g/L (control), 2,5 g/L, 5 g/L, 10 g/L, 20 g/L. Each container was given 500 ml ethanol neem leaf extract solution, contained 25 larvas and replicated three times. During the experimentation, larvae are fed with fish food. The result of experiment are from observation of the mortalities of the larvae every 12 hours in 7 days (168 hours). Probit analized are used to count LC₅₀ and LT₅₀. Correlation between concentration and mortality speed are tested with Pearson corelation test (for normal distribution data) and Spearman corelation test (for abnormal distribution data, nonparametric).

Result : the LC₅₀ value is 8,326 g/L and LT₅₀ value is 103,206 hours. Result from Kolmogorov-Smirnov Normality test for *Aedes aegypti* larvae mortalities sumary againts time (mortality speed. These data gain from *Aedes aegypti* larvae mortalities in every group of concentration divided by time of counted (tweleve fold hours). Concentration 10 g/L (p=0,070) and 20 g/L (p=0,200) showed normal distribution data (p≥0,05), whereas concentration 2,5 g/L (p=0,000) and 5 g/L (p=0,020). The result of Pearson corelation test for concetration 10 g/L (p=0,832) and 20 g/L (p=0,108) is no significance difference (p≥0,05). The result of Spearman corelation test for concetration 2,5 g/L (p=0,020) had signifincance difference (p≤0,05) and 5 g/L (p=0,108) is no significance difference (p≥0,05).

Conclution : Neem leaf extract (*Azadirachta indica*) is not an effective larvaside. Though neem leaf extract has LC₅₀ and LT₅₀ value, there is no significance correlation based on statistical test between concentration elevation and amount of larvae mortality every 12 hours.

Key words : Larvaside, *Aedes aegypti*, *Azadirachta indica*.

1) Student of Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang.

2) Pharmacy Lecturer Staff of Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK	3
DAFTAR ISI	5
DAFTAR TABEL.....	8
DAFTAR GAMBAR.....	9
DAFTAR LAMPIRAN.....	10
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang.....	11
1.2. Perumusan masalah	13
1.3. Tujuan	14
1.4. Manfaat hasil	14
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. <i>Aedes aegypti</i>	15
2.1.1. Taksonomi <i>Aedes aegypti</i>	15
2.1.2. Morfologi <i>Aedes aegypti</i>	17
2.1.3. Bionomik <i>Aedes aegypti</i>	18
2.1.4. Siklus Hidup <i>Aedes aegypti</i>	21
2.2. Tanaman Mimba (<i>Azadirachta indica</i>)	22
2.2.1. Taksonomi Tanaman Mimba	23
2.2.2. Morfologi Tanaman Mimba	25
2.2.3. Kandungan Kimia Tanaman Mimba	25

2.2.4. Khasiat Tanaman Mimba Untuk Pengobatan	25
2.2.5. Efek Bilogi dan Farmakologi Tanaman Mimba.....	26
2.2.6. Pembuatan Ekstrak Daun Mimba	27
2.3. Larvasida Sebagai Pestisida Pengendali Nyamuk	28
2.4. Kerangka Teori	32
2.5. Kerangka Konsep	32
2.6. Hipotesis	32

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Ruang Lingkup Penelitian	33
3.2. Waktu dan Lokasi Penelitian	33
3.3. Jenis Penelitian	33
3.4. Populasi dan Sampel	34
3.4.1. Populasi	34
3.4.2. Sampel	34
a. Kriteria Inklusi	34
b. Kriteria Eksklusi	34
c. Besar Sampel	34
d. Cara Pengambilan Sampel	34
3.5. Variabel Penelitian	35
3.5.1. Variabel Bebas	35
3.5.2. Variabel Terikat	35
3.6. Alat dan Bahan	35
3.6.1. Alat	35
3.6.2. Bahan	35

3.7. Cara Kerja	35
3.7.1. Persiapan Bahan	35
3.7.2. Pembagian Kelompok	36
3.7.3. Pemindahan Larva pada Kontainer	36
3.7.4. Data yang Dikumpulkan	37
3.7.5. Cara Pengumpulan Data	37
3.8. Rancangan Penelitian	37
3.9. Alur Penelitian	38
3.10. Validitas dan Reliabilitas	39
3.11. Definisi Operasional Variabel	39
3.12. Analisis Data	40
BAB IV HASIL PENELITIAN	41
BAB V PEMBAHASAN	43
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	46
DAFTAR PUSTAKA	47

DAFTAR TABEL :

Tabel 1 : Harga LC_{50} dan LT_{50} Abate dan Temephos untuk Larva <i>Aedes aegypti</i>	31
Tabel 2 : Pencatatan Jumlah Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i> per 12 jam	37
Tabel 3. Definisi Operasional Variabel	39
Tabel 4. Data kematian larva <i>Aedes aegypti</i> per 12 jam	41
Tabel 5. Hasil analisis probit LC_{50} dan LT_{50} untuk ekstrak daun mimba	42
Tabel 6. Kecepatan kematian larva <i>Aedes aegypti</i> (ekor/jam).....	42

DAFTAR GAMBAR :

Gambar 1. Pohon Mimba.....	23
Gambar 2. Daun Mimba.....	24
Gambar 3. Struktur Molekul Azadirachtin	26
Gambar 4. Rumus bangun Temephos.....	
Gambar 5. Grafik Regresi LC_{50} dari ekstrak daun mimba.....	56
Gambar 6. Grafik Regresi LT_{50} dari ekstrak daun mimba.....	58
Gambar 7. Grafik Uji Korelasi Spearman untuk Konsentrasi 2,5 g/L...	60
Gambar 8. Grafik Uji Korelasi Spearman untuk Konsentrasi 5 g/L.....	60
Gambar 9. Grafik Uji Korelasi Pearson untuk Konsentrasi 10 g/L.....	61
Gambar 10. Grafik Uji Korelasi Pearson untuk Konsentrasi 20 g/L.....	61

DAFTAR LAMPIRAN :

Lampiran 1 : Hasil analisis probit LC_{50} larutan ekstrak ethanol daun mimba terhadap larva <i>Aedes aegypti</i>	51
Lampiran 2 : Hasil analisis probit LT_{50} larutan ekstrak ethanol daun mimba terhadap larva <i>Aedes aegypti</i>	53
Lampiran 3 : Hasil uji regresi pengaruh LC_{50} terhadap probit.....	55
Lampiran 4 : Hasil uji regresi pengaruh LT_{50} terhadap probit.....	57
Lampiran 5 : Hasil Uji korelasi terhadap konsentrasi dengan jumlah larva yang mati per satuan waktu.....	59
Lampiran 6 : Hasil Identifikasi Tumbuhan Mimba (<i>Azadirachta indica</i>)	62
Lampiran 7 : Surat Keterangan Telur <i>Aedes aegypti</i>	63
Lampiran 8 : Hasil Ekstraksi Ethanol Daun Mimba	64

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Nyamuk pada umumnya dan *Aedes aegypti* pada khususnya merupakan masalah cukup besar yang menyangkut kesehatan masyarakat di negara-negara dengan iklim tropis termasuk Indonesia.¹ *Aedes aegypti* merupakan vektor dari beberapa penyakit serius yang menyerang manusia seperti malaria, encephalitis, “yellow fever”, demam dengue, demam berdarah dengue, filariasis, dan arbovirus.¹ Salah satu masalah besar yang ditimbulkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* di Indonesia adalah demam dengue dan demam berdarah dengue.² Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah salah satu penyakit yang tidak ada obat maupun vaksinnnya. Pengobatannya hanya suportif berupa tirah baring dan pemberian cairan intravena. Tindakan pencegahan dengan memberantas sarang nyamuk dan membunuh larva serta nyamuk dewasa, merupakan tindakan yang terbaik.³

Pemberantasan larva merupakan kunci strategi program pengendalian vektor di seluruh dunia.⁴ Penggunaan insektisida sebagai larvasida dapat merupakan cara yang paling umum digunakan oleh masyarakat untuk mengendalikan pertumbuhan vektor tersebut. Insektisida yang sering digunakan di Indonesia adalah Abate. Penggunaan abate di Indonesia sudah sejak tahun 1976. Empat tahun kemudian yakni tahun 1980, temephos 1% (abate) ditetapkan sebagai bagian dari program pemberantasan massal *Aedes aegypti* di Indonesia.³ Bisa dikatakan temephos sudah digunakan lebih dari 30 tahun. Meskipun begitu penggunaan insektisida yang berulang dapat menambah resiko kontaminasi residu pestisida dalam air, terutama air minum. Temephos tidak digunakan secara oral. Karena kegunaanya yang terbatas, temephos tidak diharapkan

keberadaanya di dalam air minum.⁵ Selain itu hal penting yang harus dicermati adalah biaya yang tinggi dari penggunaan pestisida kimiawi dan munculnya resistensi dari berbagai macam spesies nyamuk yang menjadi vektor penyakit.^{1,5} Bukan tidak mungkin, penggunaan temephos yang bisa dikatakan lebih dari 30 tahun di Indonesia menimbulkan resistensi.³ Laporan resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap Temephos sudah ditemukan di beberapa negara seperti Brazil, Bolivia, Argentina, Kuba, French Polynesia, Karibia, dan Thailand.³ Selain itu juga telah dilaporkan resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap temephos di Surabaya.⁶

Ketertarikan untuk mengembangkan dan menggunakan biopestisida yang alami, mudah didapatkan, serta aman bagi tubuh manusia dan lingkungan sekitar seperti azadirachtin mulai dilirik sebagai bioinsektisida akhir-akhir ini karena sudah mulai ditinggalkannya pestisida kimia sintetik.¹

Tanaman mimba (*Azadirachta indica*) termasuk familia Meliaceae. Mimba, terutama dalam biji dan daunnya mengandung beberapa komponen dari produksi metabolit sekunder yang diduga sangat bermanfaat, baik dalam bidang pertanian (pestisida dan pupuk), maupun farmasi (kosmetik dan obatobatan).⁸ Diantarnya adalah azadirachtin, salanin, meliantriol, nimbin dan nimbidin yang merupakan kandungan bermanfaat baik dalam bidang pertanian (pestisida dan pupuk), maupun farmasi (kosmetik dan obat-obatan).⁸ Berdasar penelitian yang dilakukan oleh RD Ndione, O Faye, M Ndiaye, A Dieye, dan JM Afoutou pada tahun 2007, dengan menggunakan bijij daun mimba terhadap larva *Aedes aegypti* Linnaeus 1762, yang juga mengandung azadirachtin, salalinin, meliantriol, nimbin dan nimbidin, mampu membunuh larva *Aedes aegypti*.¹ Ekstrak daun mimba berefek insektisida terhadap larva *Aedes aegypti*.⁷ Mimba tidak membunuh hama secara cepat namun memiliki mekanisme kerja menurunkan nafsu makan dan menghambat pertumbuhan dan

reproduksi.⁸ Azadirachtin merupakan penurun nafsu makan dan ecdyson blocker (penghambat hormone pertumbuhan serangga). Salanin merupakan salah satu penurun nafsu makan.⁹ Meliantriol berperan sebagai penghalau (*repellent*) sehingga serangga enggan mendekati tanaman tersebut.⁹ Nimbin dan Nimbidin, memiliki aktivitas antimikroba, antifungi dan antiviral, pada manusia dan hewan.⁹ Daun mimba juga dapat digunakan dalam membantu berbagai masalah kesehatan. Air yang dicampur ekstrak mimba digunakan untuk mandi dan untuk menyembuhkan ruam merah kulit karena panas dan kulit yang melepuh.^{8,10,11}

Senyawa-senyawa yang dikandung daun mimba seperti azadirachtin, salanin dan meliantriol tersebut itulah yang diduga dapat memberikan efek larvasida dari ekstrak ethanol daun mimba. Selain itu, tanaman mimba mudah ditemukan disekitar lingkungan kita, namun sangat disayangkan masih minimalnya pemanfaatan dari tanaman mimba ini.

Penelitian yang akan dilakukan meliputi uji efektivitas larvasida ekstrak ethanol daun mimba akan dilakukan pada hewan coba larva *Aedes aegypti*. Bentuk ekstrak dipilih dengan alasan untuk menghilangkan beberapa variabel seperti : waktu pemetikkan daun, iklim, asal daerah pengambilan, musim, dan lain-lain.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan perntanyaan penelitian sebagai berikut :

Apakah ekstrak ethanol daun mimba efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti*?

1.3. Tujuan

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas larvasida ekstrak ethanol daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap larva *Aedes aegypti*.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mencari nilai LC50 dan LT50 ekstrak ethanol daun mimba terhadap larva *Aedes aegypti*.
2. Membuktikan ada hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak ethanol daun mimba (*Azadirachta indica*) dengan jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati persatuan waktu.

1.4. Manfaat Hasil

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sumber informasi tentang efektivitas ekstrak ethanol daun mimba sebagai larvasida, dan dapat diaplikasikan oleh masyarakat untuk membasmi nyamuk *Aedes aegypti* dalam usaha menurunkan angka kejadian demam berdarah dengue di Indonesia. Serta menambah khasanah ilmu pengetahuan dan sebagai bahan perbandingan bagi penelitian yang lebih luas dan lebih dalam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Aedes aegypti*

Salah satu nyamuk yang merupakan vektor dari berbagai macam penyakit, adalah *Aedes aegypti*.

2.1.1. Taksonomi *Aedes aegypti*

Klasifikasi *Aedes aegypti* adalah sebagai berikut : ¹²

Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Class	: Insecta
Ordo	: Diptera
Subordo	: Nematocera
Family	: Culicidae
Subfamily	: Culicinae
Genus	: Aedes
Subgenus	: Stegomya
Species	: <i>Aedes aegypti</i>

2.1.2. Morfologi *Aedes aegypti*

Secara umum nyamuk *Aedes aegypti* sebagaimana serangga lainnya mempunyai tanda pengenal sebagai berikut : ¹²

- a. Terdiri dari tiga bagian, yaitu : kepala, dada, dan perut

- b. Pada kepala terdapat sepasang antena yang berbulu dan moncong yang panjang (*proboscis*) untuk menusuk kulit hewan/manusia dan menghisap darahnya.
- c. Pada dada ada 3 pasang kaki yang beruas serta sepasang sayap depan dan sayap belakang yang mengecil yang berfungsi sebagai penyeimbang (*halter*).

Aedes aegypti dewasa berukuran kecil dengan warna dasar hitam. Pada bagian dada, perut, dan kaki terdapat bercak-bercak putih yang dapat dilihat dengan mata telanjang. Pada bagian kepala terdapat pula probocis yang pada nyamuk betina berfungsi untuk menghisap darah, sementara pada nyamuk jantan berfungsi untuk menghisap bunga. Terdapat pula palpus maksilaris yang terdiri dari 4 ruas yang berujung hitam dengan sisik berwarna putih keperakan. Pada palpus maksilaris *Aedes aegypti* tidak tampak tanda-tanda pembesaran, ukuran palpus maksilaris ini lebih pendek dibandingkan dengan *proboscis*. Sepanjang antena terdapat diantara sepasang dua bola mata, yang pada nyamuk jantan berbulu lebat (*Plumose*) dan pada nyamuk betina berbulu jarang (*pilose*).¹²

Dada nyamuk *Aedes aegypti* agak membongkok dan terdapat *scutelum* yang berbentuk tiga lobus. Bagian dada ini kaku, ditutupi oleh *scutum* pada punggung (dorsal), berwarna gelap keabu-abuan yang ditandai dengan bentukan menyerupai huruf Y yang ditengahnya terdapat sepasang garis membujur berwarna putih keperakan. Pada bagian dada ini terdapat dua macam sayap, sepasang sayap kuat pada bagian mesotorak dan sepasang sayap pengimbang (*halter*) pada metatorak. Pada syap terdapat saluran trachea

longitudinal yang terdiri dari *chitin* yang disebut *venasi*. *Venasi* pada *Aedes aegypti* terdiri dari vena costa, vena subcosta, dan vena longitudinal.¹²

Terdapat tiga pasang kaki yang masing-masing terdiri dari coxae, trochanter, femur, tibia dan lima tarsus yang berakhir sebagai cakar. Pada pembatas antara prothorax dan mesothorax, dan antara mesothorax dengan metathorax terdapat *stigma* yang merupakan alat pernafasan.¹²

Bagian perut nyamuk *Aedes aegypti* berbentuk panjang ramping, tetapi pada nyamuk gravid (kenyang) perut mengembang. Perut terdiri dari sepuluh ruas dengan ruas terakhir menjadi alat kelamin. Pada nyamuk betina alat kelamin disebut *cerci* sedang pada nyamuk jantan alat kelamin disebut *hypopigidium*. Bagian dorsal perut *Aedes aegypti* berwarna hitam bergaris-garis putih, sedang pada bagian ventral serta lateral berwarna hitam dengan bintik-bintik putih keperakan.¹²

2.1.3. Bionomik *Aedes aegypti*

Nyamuk *Aedes aegypti* mula-mula banyak ditemukan di kota-kota pelabuhan dan dataran rendah, kemudian menyebar ke pedalaman. Penyebaran nyamuk *Aedes aegypti* terutama dengan bantuan manusia, mengingat jarak terbang rata-rata yang tidak terlalu jauh, yaitu sekitar 40 – 100 meter. Meskipun jarak terbang *Aedes aegypti* bisa mencapai 2 km namun jarang sekali terbang sampai sejauh itu karena tiga hal penting yang dibutuhkan untuk berkembang biak terdapat dalam satu rumah, yaitu tempat perindukan, tempat mendapatkan darah, dan tempat istirahat.¹²

Aedes aegypti jantan yang lebih cepat menjadi nyamuk dewasa tidak akan terbang terlalu jauh dari tempat perindukan untuk menunggu nyamuk betina yang muncul untuk kemudian berkopulasi. *Aedes aegypti* bersifat antropofilik dan hanya nyamuk betina saja yang menggigit. Nyamuk menggigit baik di dalam maupun di luar rumah, biasanya pada pagi hari pukul 08.00 – 11.00 WIB dan pada sore hari pukul 15.00 – 17.00 WIB. Sifat sensitif dan mudah terganggu menyebabkan *Aedes aegypti* dapat menggigit beberapa orang secara bergantian dalam waktu singkat (multiple halter) dimana hal ini sangat membantu dalam memindahkan virus dengue ke beberapa orang sekaligus, sehingga dilaporkan adanya beberapa penderita DBD dalam satu rumah. Meskipun tidak menggigit, nyamuk jantan juga tertarik pada manusia apabila melakukan kopulasi.¹²

Nyamuk *Aedes aegypti* suka bertelur di air yang jernih dan menyukai kontainer dalam rumah yang relatif stabil. Disamping itu *Aedes aegypti* juga lebih menyukai kontainer berwarna gelap dan tidak terkena cahaya matahari secara langsung.¹²

2.1.4. Siklus Hidup *Aedes aegypti*

Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* secara sempurna yaitu melalui 4 empat stadium, yaitu telur, larva, pupa, dan dewasa.¹²

Telur

Pada waktu dikeluarkan, telur aedes berwarna putih, dan berubah menjadi hitam dalam waktu 30 menit. Telur diletakkan satu demi satu dipermukaan air, atau sedikit dibawah permukaan air dalam jarak lebih kurang

2,5 cm dari tempat perindukan. Telur dapat bertahan sampai berbulan-bulan dalam suhu $2^{\circ}\text{C} - 4^{\circ}\text{C}$, namun akan menetas dalam waktu 1 – 2 hari pada kelembaban rendah. Dari penelitian Brown (1962) telur yang diletakkan di dalam air akan menetas dalam waktu 1 – 3 hari pada suhu 30°C , tetapi membutuhkan waktu 7 hari pada suhu 16°C . Pada kondisi normal, telur *Aedes aegypti* yang direndam di dalam air akan menetas sebanyak 80% pada hari pertama dan 95% pada hari kedua. Telur *Aedes aegypti* berukuran kecil (50μ), sepintas lalu tampak bulat panjang dan berbentuk lonjong (oval) mempunyai torpedo. Di bawah mikroskop, pada dinding luar (*exochorion*) telur nyamuk ini, tampak adanya garis-garis membentuk gambaran seperti sarang lebah. Berdasarkan jenis kelaminnya, nyamuk jantan akan menetas lebih cepat dibanding nyamuk betina, serta lebih cepat menjadi dewasa.¹²

Faktor-faktor yang mempengaruhi daya tetas telur adalah suhu, pH air perindukan, cahaya, serta kelembaban disamping fertilitas telur itu sendiri.¹²

Larva

Setelah menetas, telur akan berkembang menjadi larva (jentik-jentik). Pada stadium ini, kelangsungan hidup larva dipengaruhi suhu, pH air perindukan, ketersediaan makanan, cahaya, kepadatan larva, lingkungan hidup, serta adanya predator. Adapun ciri-ciri larva *Aedes aegypti* adalah :¹³

- a. Adanya corong udara pada segmen terakhir.
- b. Pada segmen-segmen abdomen tidak dijumpai adanya rambut-rambut berbentuk kipas (*Palmate hairs*).
- c. Pada corong udara terdapat *pecten*.
- d. Sepasang rambut serta jumbai pada corong udara (*siphon*).

- e. Pada setiap sisi abdomen segmen kedelapan ada *comb scale* sebanyak 8 – 21 atau berjejer 1 – 3.
- f. Bentuk individu dari *comb scale* seperti duri.
- g. Pada sisi thorax terdapat duri yang panjang dengan bentuk kurva dan adanya sepasang rambut di kepala.
- h. Corong udara (*siphon*) dilengkapi *pecten*.

Larva *Aedes aegypti* biasa bergerak-gerak lincah dan aktif, dengan memperlihatkan gerakan-gerakan naik ke permukaan air dan turun ke dasar wadah secara berulang. Larva mengambil makanan di dasar wadah, oleh karena itu larva *Aedes aegypti* disebut pemakan makanan di dasar (*bottom feeder*). Pada saat larva mengambil oksigen dari udara, larva menempatkan corong udara (*siphon*) pada permukaan air seolah-olah badan larva berada pada posisi membentuk sudut dengan permukaan air.¹⁴

Temperatur optimal untuk perkembangan larva ini adalah 25°C – 30°C. Larva berubah menjadi pupa memerlukan waktu 4 – 9 hari dan melewati 4 fase atau biasa disebut instar. Perubahan instar tersebut disebabkan larva mengalami pengelupasan kulit atau biasa disebut ecdisi/moulting. Perkembangan dari instar I ke instar II berlangsung dalam 2 – 3 hari, kemudian dari instar II ke instar III dalam waktu 2 hari, dan perubahan dari instar III ke instar IV dalam waktu 2 – 3 hari.¹⁵

Pupa

Larva instar IV akan berubah menjadi pupa yang berbentuk bulat gemuk menyerupai tanda koma. Untuk menjadi nyamuk dewasa diperlukan

waktu 2 – 3 hari. Suhu untuk perkembangan pupa yang optimal adalah sekitar $27^{\circ}\text{C} - 32^{\circ}\text{C}$.¹⁵

Pada pupa terdapat kantong udara yang terletak diantara bakal sayap nyamuk dewasa dan terdapat sepasang sayap pengayuh yang saling menutupi sehingga memungkinkan pupa untuk menyelam cepat dan mengadakan serangkaian jungkiran sebagai reaksi terhadap rangsang. Stadium pupa tidak memerlukan makanan. Bentuk nyamuk dewasa timbul setelah sobeknya selongsong pupa oleh gelembung udara karena gerakan aktif pupa.¹⁵

Dewasa

Setelah keluar dari selongsong pupa, nyamuk akan diam beberapa saat di selongsong pupa untuk mengeringkan sayapnya. Nyamuk betina dewasa menghisap darah sebagai makanannya, sedangkan nyamuk jantan hanya makan cairan buah-buahan dan bunga. Setelah berkopulasi, nyamuk betina menghisap darah dan tiga hari kemudian akan bertelur sebanyak kurang lebih 100 butir. Nyamuk akan menghisap darah lagi.¹⁵

Nyamuk dapat hidup dengan baik pada suhu $24^{\circ}\text{C} - 39^{\circ}\text{C}$ dan akan mati bila berada pada suhu 6°C dalam 24 jam. Nyamuk dapat hidup pada suhu $7^{\circ}\text{C} - 9^{\circ}\text{C}$. Rata-rata lama hidup nyamuk betina *Aedes aegypti* selama 10 hari.¹⁶

2.2. Tanaman Mimba (*Azadirachta indica*)

Mimba mempunyai nama lain : *Antelaea azadirachta* (L.) Adelb., *Azedarach fraxinifolia* Moench, *Melia azadirachta* L., *M. fraxinifolia* Adelb., *M. indica* (A.Juss.) Brandis, *M. pinnata* Stokes.¹⁷

Nama umum/dagang: Mimba ¹⁷

Nama daerah/lokal : Mimba, Nimba (sunda), Intaran (Bali, Nusa Tenggara), Imbau (Jawa Timur), Mempheuh, Membha (Madura). ^{18,19}

2.2.1. Taksonomi Tanaman Mimba

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, kedudukan tanaman mimba diklasifikasikan sebagai berikut . ^{20,21}

Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridaeplantae
Phylum	: Tracheophyta
Subphylum	: Euphyllphytina
Infraphylum	: Radiatopses
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Superorder	: Rutanae
Order	: Rutales
Suborder	: Meliineae
Family	: Meliaceae
Subfamily	: Clusioideae
Genus	: Azadirachta
Specific epithet	: indica – A.Juss
Botanical name	: <i>Azadirachta indica</i> Adr. Juss

Unambiguous Synonyms :

1. *Antelaea azadirachta* (L.) Adelb.
2. *Azadirachta indica* Adr. Juss.
3. *Azadirachta indica* Juss.
4. *Melia azadirachta* L.

2.2.2. Morfologi Tanaman Mimba



Gambar 1. Pohon Mimba

- Habitus : Pohon, tinggi 8-15 m, dapat tumbuh hingga 30 meter¹⁸, bunga banci.^{7,19} Dapat berumur hingga dua abad¹⁸
- Batang : Percabangan simpodial, tegak, berkayu, bulat, permukaan kasar, coklat, kulit batang mengandung gum, coklat pahit.^{7,19} diameter batang dapat mencapai 2-5 meter¹⁸

Daun : Anak daun dengan helaian berbentuk memanjang lanset bengkok, panjang 3-10 cm, lebar 0,5-3,5 cm, pangkal runcing tidak simetri, ujung runcing sampai mendekati meruncing, gundul tepi daun bergerigi kasar, remasan berasa pahit, warna hijau muda.⁷ tangkai panjang 8-20cm.¹⁹



Gambar 2. Daun Mimba (Sumber : www.aos.org, 2008)

Bunga : Bunga memiliki susunan malai, terletak di ketiak daun paling ujung, 5-30 cm, gundul atau berambut halus pada pangkal tangkai karangan, tangkai bunga 1-2 mm. Kelopak kekuningan, bersilia, rata rata 1 mm. Mahkota putih kekuningan, bersilia, panjang 5-7 mm. Benang sari membentuk tabung benang sari, sebelah luar gundul atau berambut pendek halus, sebelah dalam berambut rapat. Putik memiliki panjang rata rata 3 mm, gundul.^{7,19} Bunga mimba memiliki aroma seperti madu sehingga disukai lebah¹⁸

Buah	: Bulat telur, buni, buah matang berwarna hijau kekuningan 1,5-2 cm. ^{7,18,19} daging buahnya berasa manis dan menyelimuti biji, tidak beracun ^{18,22}
Biji	: Bulat, diameter kurang lebih 1 cm, putih ¹⁹ Kulit biji agak keras, beratnya mencapai 160 mg dan akan mencapai berat maksimum menjelang matangnya buah. ¹⁸
Akar	: Tunggang, coklat ¹⁹

2.2.3. Kandungan Kimia Tanaman Mimba

Metabolit yang ditemukan dari *Azadirachta indica* antara lain disetil vilasinin, nimbandiol, 3-desasetil salanin, salanol, azadirachtin. Biji mengandung azadirachtin, azadiron, azadiradion, epoksiazadiradion, gedunin, 17-epiazadiradion, 17-hidroksi azadiradion dan alkaloid. Kulit batang dan kulit akar mengandung nimbin, nimbinin, nimbidin, nimboesterol, nimboesterin, sugiol, nimbiol, margosin (suatu senyawa alkaloid). Buah mengandung alkaloid (azaridin). Daun mengandung azadirachtin, meliantriol, salanin, nimbin, nimbidin, dan paraisin (suatu alkaloid dan komponen minyak atsiri mengandung senyawa sulfide). Tangkai dan ranting hijau mengandung 2 tetranortriterpenoidhidroksibutenolida yaitu desasetilnimbinolida dan desasetilisonimbinolida yang berhasil diisolasi bersama dengan desasetilnimbin.⁷

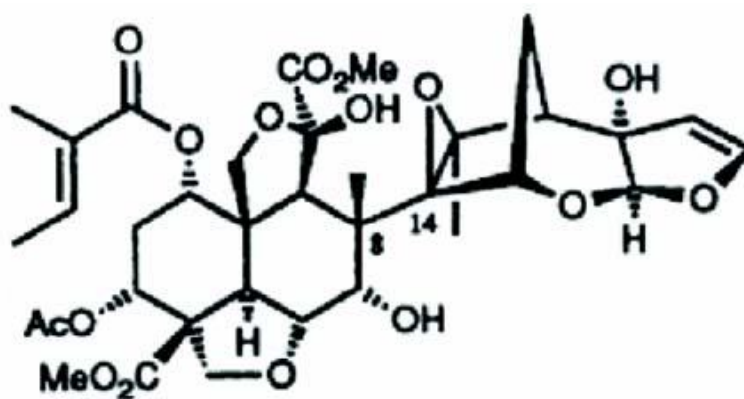
2.2.4. Khasiat Tanaman Mimba Untuk Pengobatan

Daun mimba dan biji mimba bisa digunakan sebagai antibiotik⁹, antimikroba⁹, antifungi⁹, antihelmintik²³ dan antivirus.⁹ Selain itu daun

mimba dapat digunakan untuk menurunkan gula darah ²³, menyembuhkan penyakit kulit ²³, memiliki efek gastro protektif pada mukosa lambung terhadap ulkus peptikum ²⁴, menurunkan total kolesterol dalam darah, LDL- and VLDL-cholesterol, triglyserid dan total lipid dalam serum.²⁵ Biasanya tujuh lembar daun mimba diseduh langsung dengan air hangat kemudian langsung diminum.⁸

2.2.5. Efek Biologi dan Farmakologi Tanaman Mimba

Azadirachtin merupakan molekul kimia $C_{35}H_{44}O_{16}$ yang termasuk dalam kelompok triterpenoid. ²⁶ Rumus Bangun azadirachtin :



Gambar 3. Struktur Molekul Azadirachtin

(Sumber : Mordue (Luntz)and Nisbet, 2000)

Efek primer azadirachtin terhadap serangga berupa antifeedant dengan menghasilkan stimulan detterren spesifik berupa reseptor kimia (chemoreseptor) pada bagian mulut (mouth part) yang bekerja bersama-sama dengan reseptor kimia yang mengganggu persepsi rangsangan untuk makan (phagostimulant). ²⁶ Efek sekunder Azadirachtin yang dikandung mimba berperan sebagai *ecdyson blocker* atau zat yang dapat menghambat kerja

hormon *ecdysone*, yaitu hormon yang berfungsi dalam metamorfosa serangga. Serangga akan terganggu pada proses pergantian kulit, ataupun proses perubahan dari telur menjadi larva, atau dari larva menjadi kepompong atau dari kepompong menjadi dewasa. Biasanya kegagalan dalam proses ini seringkali mengakibatkan kematian pada serangga.^{9,26}

Salanin berperan sebagai penurun nafsu makan (*antifeedant*) yang mengakibatkan daya rusak serangga sangat menurun, walaupun serangganya sendiri belum mati. Oleh karena itu, dalam menggunakan pestisida nabati dari mimba, seringkali hama tidak mati seketika setelah diaplikasi (knock down), namun memerlukan beberapa hari untuk mati, biasanya 4-5 hari. Namun demikian, hama yg telah terpapar tersebut daya rusaknya sudah sangat menurun, karena dalam keadaan sakit.⁹

Melianto berperan sebagai penghalau (*repellent*) yang mengakibatkan hama serangga enggan mendekati zat tersebut. Suatu kasus menarik di Afrika, ketika belalang menyerang tanaman di Afrika, semua jenis tanaman terserang belalang, kecuali satu jenis tanaman, yaitu mimba. Mimba pun dapat merubah tingkah laku serangga, khususnya belalang (*insect behaviour*) yang tadinya bersifat migrasi dan bergerombol dan merusak menjadi bersifat soliter yang bersifat tidak merusak.⁹ Nimbin dan Nimbidin berperan sebagai antibiotik, antimikroorganisme, antivirus.⁹

2.2.6. Pembuatan Ekstrak Ethanol Daun Mimba

Daun mimba dicuci bersih dengan air, kemudian diris tipis-tipis. Daun mimba tidak boleh dikeringkan di bawah sinar matahari karena dapat menghilangkan efek insektisida dari daun mimba itu sendiri.¹¹ Daun mimba

yang telah diiris kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode Maserasi (cara dingin) dan menggunakan pelarut alkohol (ethanol).

Metode Maserasi adalah proses pengekstraksian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.²⁷

Sisa ekstrak dengan sisa pelarut kemudian diuapkan dengan menggunakan *water bath* untuk menghilangkan pelutnya sehingga didapatkan ekstrak yang kental.

2.3. Larvasida Sebagai Pestisida Pengandali Nyamuk

Hingga saat ini cara pencegahan atau pemberantasan Demam Berdarah Dengue (DBD) yang dapat dilaksanakan dengan memberantas vektor untuk memutuskan rantai penularan. Salah satu pemberantasan ditujukan pada larva *Aedes aegypti*. Cara yang biasa digunakan untuk membunuh larva adalah dengan menggunakan larvasida. Larvasida yang termasuk insektisida biologis, seperti larvasida mikroba yaitu *Bacillus sphaericus* dan *Bacillus thuringiensis*. Larvasida yang termasuk pestisida, seperti abate (temephos), methoprene, minyak, dan *monomolecular film*. Nyamuk membutuhkan air untuk berkembang biak. Larvasida meliputi pemakaian pestisida pada habitat perkembangbiakan untuk membunuh larva nyamuk. Penggunaan larvasida dapat mengurangi penggunaan keseluruhan pestisida dalam program pengendalian nyamuk. Membunuh larva nyamuk sebelum

berkembang menjadi dewasa dapat mengurangi atau menghapus kebutuhan penggunaan pestisida untuk membunuh nyamuk dewasa.²⁹

1. Larvasida Mikroba

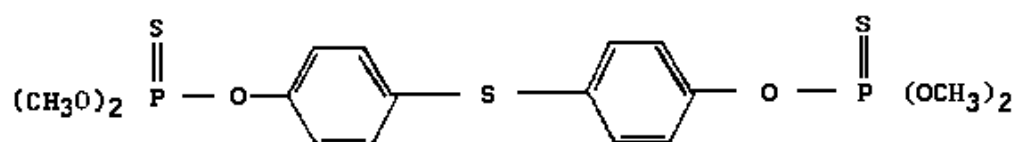
Larvasida mikroba yang digunakan untuk mengendalikan nyamuk, yaitu *Bacillus sphaericus* dan *Bacillus thuringiensis*.²⁸

2. Metophrene

Bekerja menyerupai hormon pertumbuhan pada serangga dan mencegah maturasi normal dari larva. Digunakan di air untuk membunuh larva nyamuk.²⁸

3. Temephos (Abate)

Abate merupakan nama dagang dari temphos (O,O,O',O'-Tetramethyl O,O'-thiodi-p, -phenylenephosphorothioate), merupakan pestisida golongan organofosfat. Penggunaannya pada tempat penampungan air minum telah dinyatakan aman oleh WHO dan DepKes RI.²⁹ Dengan formula molekuler Abate merupakan pestisida yang digunakan secara umum, mengandung produk yang sedikit beracun (EPA toxicity class III).⁶ Temephos adalah insektisida organofosfat non sistemik yang digunakan untuk mengontrol nyamuk, larva *black fly* (*Simulidae*), dan lain-lain. Biasa digunakan di kolam, danau, dan rawa-rawa. Juga biasa digunakan untuk membasmi kutu pada anjing dan kucing dan membasmi kutu pada manusia. Temephos tersedia dalam sediaan mencapai 50% emulsi konsentrat, 50% serbuk basah, dan bentuk granuler yang mencapai 5%.⁶



Gambar 4. Rumus bangun Temephos : diambil dari WHO, International Programme on Chemical Safety. "Temephos". 197

Temephos senyawa murni berupa kristalin putih padat, dengan titik lebur 30°C – 30.5°C , produknya berupa cairan kental berwarna coklat. Tidak larut dalam air pada suhu 20°C (kurang dari 1 ppm). Larut dalam aseton, asetonitril, ether dan kebanyakan aromatik dan klorinasi hidrokarbon. Tidak larut dalam heksana.³⁰ Mudah terdegradasi bila terkena sinar matahari, sehingga kemampuan membunuh larva tergantung dari degradasi tersebut.³¹

Pestisida-pestisida yang tergolong di dalam senyawa fosfat organik kerjanya menghambat enzim *cholinesterase*, sehingga menimbulkan gangguan pada aktivitas syaraf karena tertimbunnya *acetylcholin* pada ujung syaraf tersebut. Hal ini lah yang mengakibatkan kematian.³² Jadi, seperti senyawa-senyawa organofosfat lainnya, maka temephos juga bersifat *anticholinesterase*.

Keracunan fosfat organik pada serangga diikuti oleh ketidak tenangan, hipereksitasi, tremor dan konvulsi, kemudian kelumpuhan otot (paralise). Namun demikian penyebab utama kematian pada serangga sukar ditunjukkan, kecuali pada larva nyamuk kematiannya disebabkan oleh karena tidak dapat mengambil udara untuk bernafas.³¹

Metabolisme temephos yaitu gugus *phosphorothioat* ($\text{P}=\text{S}$) dalam tubuh binatang diubah menjadi fosfat ($\text{P}=\text{O}$) yang lebih potensial sebagai *anticholinesterase*. Larva *Aedes aegypti* mampu mengubah $\text{P}=\text{S}$ menjadi $\text{P}=\text{O}$ ester lebih cepat dibandingkan lalat rumah, begitu pula penetrasi temephos kedalam larva berlangsung cepat dimana lebih dari 99% temephos dalam medium diabsorpsi dalam waktu satu jam setelah perlakuan. Setelah diabsorpsi, abate diubah menjadi produk-produk metabolisme, sebagian dari produk metabolik tersebut diekskresikan ke dalam air.³ Dosis Abate yang dibutuhkan untuk membunuh jentik nyamuk dalam air minum adalah 10 gr untuk 100 liter air.²⁹

Tabel 1 : Harga LC₅₀ dan LT₅₀ Abate dan Temephos untuk Larva *Aedes aegypti*

(Sumber : Pestiside Action Network. Pestisides Database – Chemical Toxicity Studies on Aquatic Organisms “Yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*) Toxicity Studies – Toxicology studies from the primary scientific literature on aquatic organisms”. San Fransisco, CA. 2009.

Stadium	Waktu Pengukuran	Toxicity Endpoint	Mean Dosis Toksik	Bahan Kimia
Instar IV	24 jam	LC ₅₀	10,5 µ/L	ABATE
Instar IV (4-5 hari)	24 jam	LC ₅₀	4,00 µ/L	T, TEMEPHOS
Awal Instar IV	256,4 menit	LT ₅₀	25,0 µ/L	ABATE 500-E
Awal Instar IV	244,6 Menit	LT ₅₀	50,0 µ/L	ABATE 500-E

Temephos relatif aman dan tidak menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia. Meskipun begitu, dalam dosis tinggi, temephos, dapat menimbulkan overstimulasi sistem saraf menyebabkan pusing, mual dan kebingungan . Pada pajanan yang sangat tinggi dapat menyebabkan paralise nafas dan kematian.²⁸

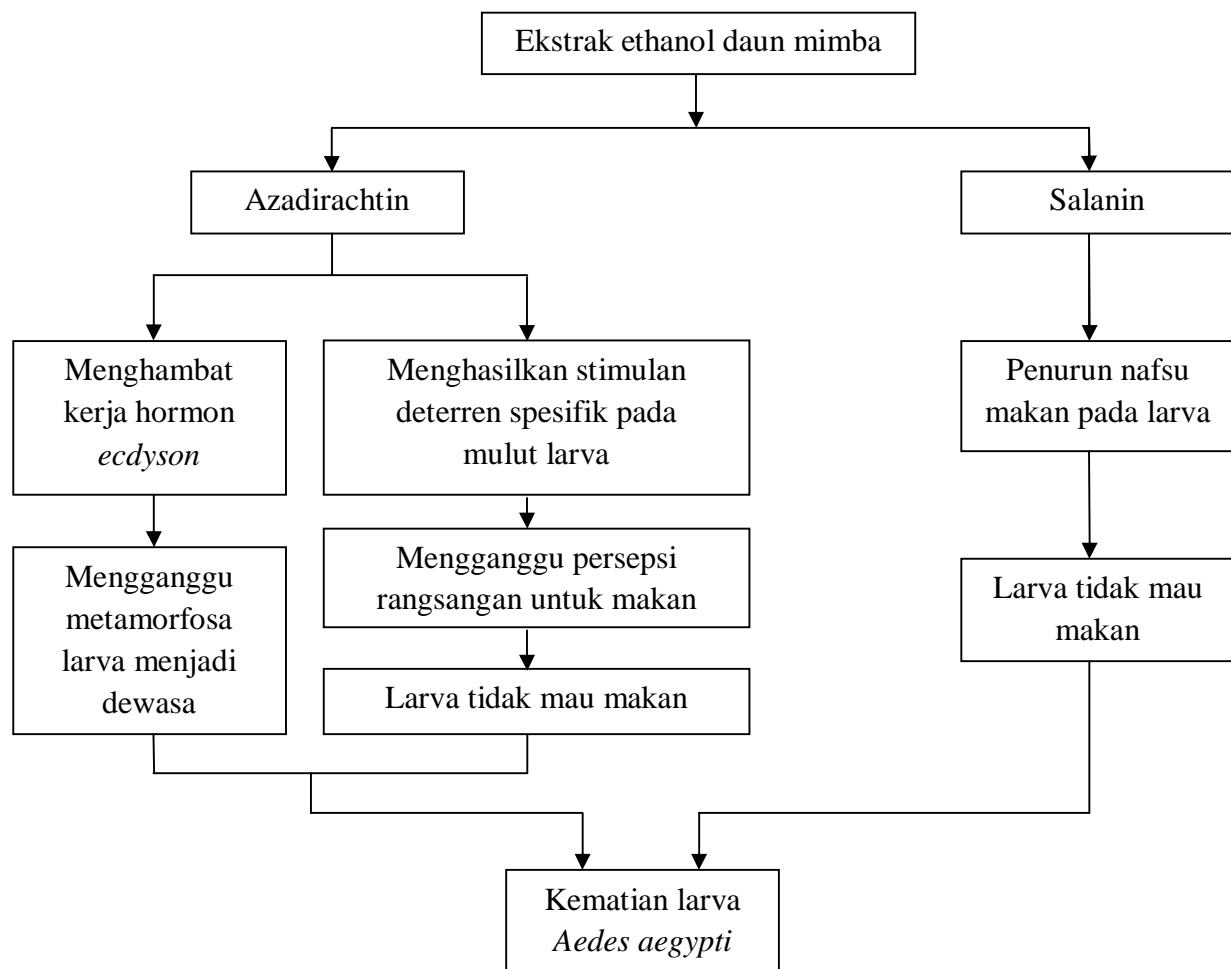
4. *Monomolecular Film*

Monomolecular film adalah pestisida dengan toksisitas rendah yang menyebar sebagai lapisan tipis dipermukaan air yang membuta larva nyamuk, pupa, dan nyamuk yang hampir dewasa untuk menempel pada permukaan air, dan menyebabkan nyamuk-nyamuk tersebut tenggelam.²⁸

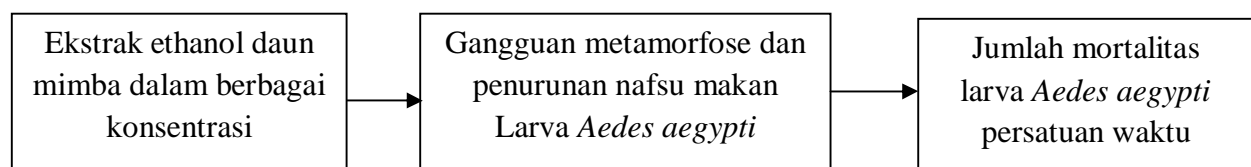
5. Minyak

Minyak, seperti film, adalah pestisida yang digunakan untuk membentuk lapisan penutup pada permukaan air untuk menenggelamkan larva, pupa, dan nyamuk yang hampir dewasa.²⁸

2.4. Kerangka Teori



2.5. Kerangka Konsep



F. Hipotesis

Ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti*, ditunjukkan dengan nilai LC_{50} dan LT_{50} dan adanya hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak dengan jumlah larva yang mati persatuan waktu.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup keilmuan penelitian ini meliputi, bidang Farmasi dan Parasitologi.

3.2. Waktu dan Lokasi Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan kurang lebih selama tiga puluh hari pada bulan Mei 2009. Lokasi penelitian di Laboratorium Farmasi dan Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

3.3. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Desain penelitian ini dipilih karena tidak dilakukan pretes terhadap sampel sebelum perlakuan. Karena telah dilakukan randomisasi baik pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol; kelompok-kelompok tersebut dianggap sama sebelum dilakukan perlakuan. Dengan cara ini memungkinkan dilakukan pengukuran pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen yang satu dengan cara membandingkannya dengan kelompok eksperimen yang lain dan kelompok kontrol.³³

3.4. Populasi dan Sampel

3.4.1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah larva instar III/IV *Aedes aegypti* yang didapat dari Bagian Parsitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

3.4.2. Sampel

a. Kriteria Inklusi

1. Larva *Aedes aegypti* sehat instar yang telah mencapai instar III/IV.
2. Larva bergerak aktif.

b. Kriteria Eksklusi

1. Larva *Aedes aegypti* yang belum mencapai instar III/IV.
2. Larva yang telah berubah menjadi pupa ataupun nyamuk dewasa.
3. Larva yang mati sebelum perlakuan.

c. Besar Sampel

Besar sampel 25 ekor larva instar III/IV.¹ Diletakkan dalam 5 kontainer, yang masing-masing kontainer berisi 25 ekor larva. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali pada tiap bahan uji.¹ Jumlah seluruh sampel yang dibutuhkan sebanyak 375 Larva *Aedes aegypti*.

d. Cara Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan *simple random sampling* terhadap larva *Aedes aegypti*. Walaupun populasi homogen terdapat kriteria inklusi dan ekskusi dalam menentukan sample untuk penelitian.

3.5. Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel Bebas

Variabel bebas atau *independent variable* penelitian ini adalah yaitu ekstrak ethanol daun mimba dan larva *Aedes aegypti* instar III/IV.

3.5.2. Variabel Terikat

Variabel terikat atau *dependent variable* dalam penelitian ini adalah Lethal Concentration 50 (LC₅₀), Lethal Time 50 (LT₅₀) dan kecepatan kematian larva (ekor/jam).

3.6. Alat dan Bahan

3.6.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, neraca analitik, pipet, gelas ukur 1000cc, nampan plastik, 15 wadah plastik (sebagai kontainer), beker glass, kain (sebagai pelindung agar nyamuk yang menjadi dewasa tidak terbang keluar), blender atau juicer, batang prngaduk kaca, ekstraktor (Peralatan Maserasi), evaporator, kertas label, pisau.

3.6.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : ekstrak ethanol daun mimba (Daun Mimba didapatkan dari daerah Mugas, Semarang); larutan ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 2,5 g/L, 5 g/L, 10 g/L, 20 g/L (besarnya konsentrasi didapatkan dari uji pendahuluan/*trial*); air bersih atau *aquadest*; larva *Aedes aegypti* instar III/IV; *Fish food* untuk makanan larva.

3.7. Cara Kerja

3.7.1. Persiapan Bahan

1. Pembuatan larutan induk dari ekstrak ethanol daun mimba yang memiliki konsentrasi 100% di dalam 500 ml air.

2. Melakukan uji pendahuluan atau *trial* dengan uji coba dengan menggunakan konsentrasi desimal (perbandingan konsentrasi kelipatan 10) dan konsentrasi ekstrak ethanol daun mimba yang digunakan sebagai pembentuk biofilm di gigi yang berpengaruh terhadap kolonisasi *Candida albicans*.³⁶ Kemudian di tetapkan 4 konsentrasi dengan perbandingan konsentrasi 1 : 2 : 4 : 8 dalam batas 20% - 80% konsentrasi maksimal.
3. Telur *Aedes aegypti*, ditetaskan dalam nampan plastik berisi air bersih ± 1000 cc. Larva yang telah menetas diberi makan *fish food* setiap hari. Larva-larva tersebut dipelihara sampai stadium IV, kurang lebih selama 6 hari, kemudian digunakan untuk penelitian.

3.7.2. Pembagian Kelompok

Larutan yang telah dipersiapkan yang berisi ekstrak ethanol daun mimba, dipindahkan kedalam kontainer yang telah dipersiapkan dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan secara merata. Dengan pembagian sebagai berikut :

- a. Kelompok A : ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 2,5 g/L.
- b. Kelompok B : ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 5 g/L.
- c. Kelompok C : ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 10 g/L.
- d. Kelompok D : ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 20 g/L.
- e. Kelompok K : ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 0 g/L.

Dalam penelitian ini larutan ekstrak ethanol daun mimba dalam setiap kontainer tidak diganti selama percobaan. Setiap konsentrasi dari kelompok percobaan direplikasi tiga kali.

3.7.3. Pemindahan Larva Pada Kontainer

1. Larva pada nampan plastik dipindahkan ke beker glass.

2. Dengan menggunakan pipet, ambil 25 ekor larva dan taruh kedalam tiap kontainer.
3. Setelah semua larva dipindahkan kedalam kontainer, setiap kelompok kontainer ditutup dengan kain.
4. Larva diberi makan *fish food* selama penelitian.

3.7.4. Data Yang Dikumpulkan

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer yang didapat dari jumlah larva yang mati setiap 12 jam pada setiap konsentrasi ekstrak daun mimba. Data yang dikumpulkan dicatat didalam bentuk tabel.

3.7.5. Cara Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan adalah dengan menghitung jumlah larva yang mati pada setiap kontainer. Penghitungan larva yang mati dilakukan setiap 12 jam, dicatat didalam bentuk tabel. Larva yang mati merupakan larva yang tenggelam ke dasar kontainer, tidak bergerak, meninggalkan larva lain yang dapat bergerak dengan jelas dan tidak berespon terhadap rangsang.

3.8. Rancangan Penelitian

Rancangan Penelitian seperti terlihat pada tabel sebagai berikut :

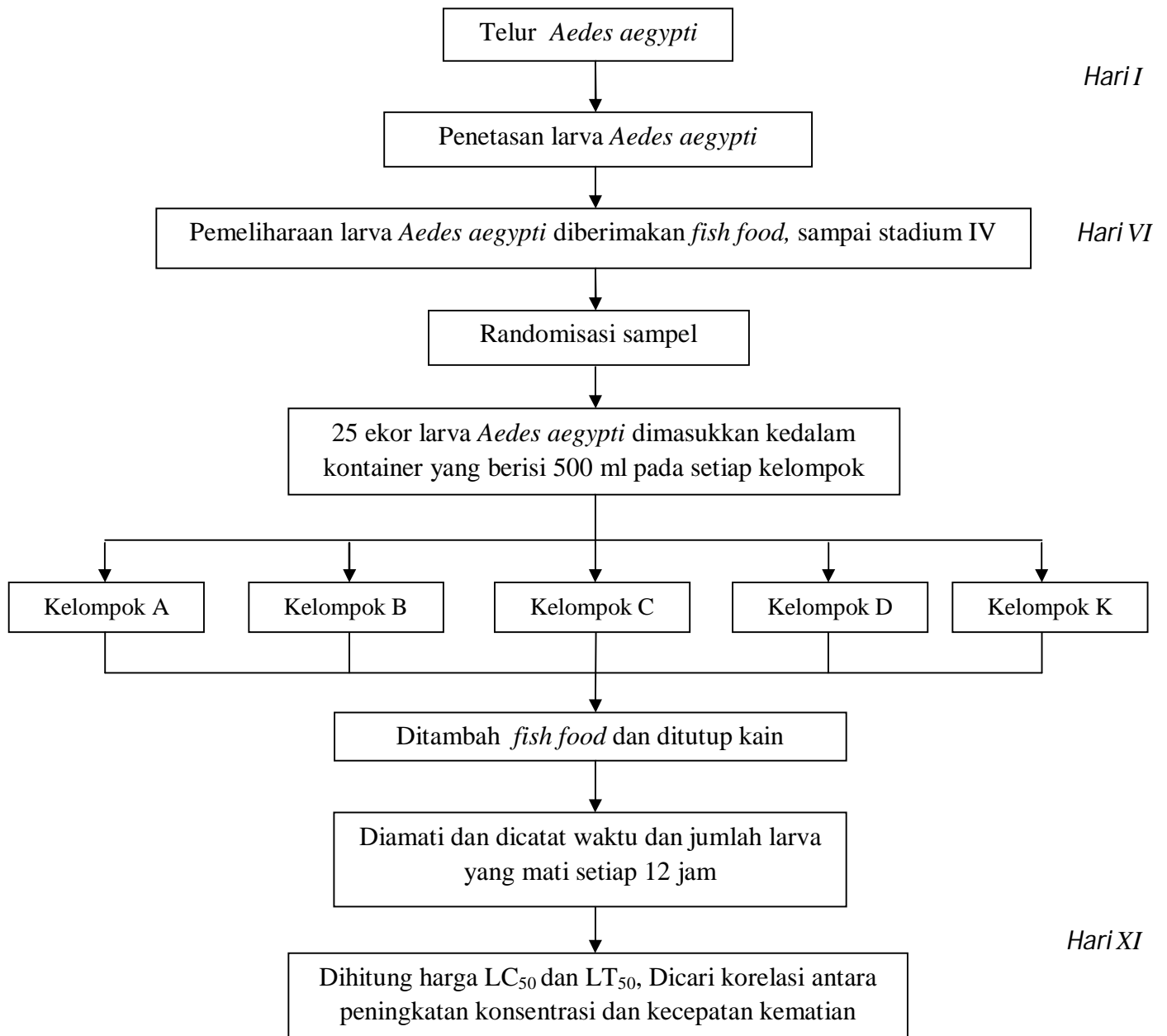
Jumlah mortalitas larva *Aedes aegypti* yang diberi ekstrak ethanol daun mimba (*Azadirachta indica*).

Tabel 2 : Pencatatan Jumlah Mortalitas Larva *Aedes aegypti* per 12 jam

Kelompok Perlakuan	Konsetrasi ekstrak ethanol daun mimba	Jumlah mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i>				
		12 jam	24 jam	36 jam	48 jam	Dst..
Kelompok A	2,5 g/L					
Kelompok B	5 g/L					
Kelompok C	10 g/L					

Kelompok D	20 g/L					
Kelompok K	0 g/L					

3.9. Alur Penelitian



Keterangan : Kelompok A : ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 2,5 g/L.

Kelompok B : ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 5 g/L.

Kelompok C : ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 10 g/L.

Kelompok D : ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 20 g/L.

Kelompok K : ekstrak ethanol daun mimba dengan konsentrasi 0 g/L.

3.10. Validitas dan Reliabilitas

Validitas dijaga dengan :

1. Matching, yaitu dengan menyamakan kondisi larva nyamuk.
2. Mengambil sampel secara acak
3. Menggunakan kriteria standar dalam menilai kematian larva nyamuk dan menggunakan alat ukur yang sama.

Reliabilitas data dijaga dengan replikasi tiga kali pada setiap kelompok uji.

3.11. Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Definisi Operasional	Skala
1.	Ekstrak ethanol daun mimba	Daun mimba yang telah diekstraksi dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut ethanol, untuk menghilangkan variabel perancu.	Rasio
2.	Larva <i>Aedes aegypti</i> instar III/IV	Larva <i>Aedes aegypti</i> yang telah berumur sekitar 5 – 7 hari setelah menetas.	Rasio
3.	Mortalitas Larva <i>Aedes aegypti</i>	Larva <i>Aedes aegypti</i> dianggap mati dengan kriteria : larva tidak bergerak atau tidak berespon terhadap rangsang.	Rasio
4.	LC ₅₀ (Lethal Concentration 50)	Merupakan konsentrasi larvasida yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50%	Rasio

		hewan coba. ³⁴	
5.	LT ₅₀ (Lethal Time 50)	Merupakan panjang waktu saat 50% hewan coba sudah mati dan 50% hewan coba lainnya masih hidup. ³⁵	Rasio
6.	Kecepatan kematian	Jumlah kematian tiap 12 jam dibagi satuan waktu (kelipatan 12 jam). Satuan : ekor/jam	Rasio

3.12. Analisis Data

Untuk menganalisa data jumlah kematian larva nyamuk digunakan analisa analitik (uji statistik) dengan menggunakan metode analisa probit untuk mengetahui harga LC₅₀ dan LT₅₀ dari ekstrak ethanol daun mimba. Kemudian dilakukan uji Regresi Linier untuk mengetahui pengaruh LC₅₀ terhadap Probit dan pengaruh LT₅₀ terhadap Probit.

Dilakukan uji normalitas Kolmogorov Smirnov untuk mengetahui normalitas sebaran data kecepatan kematian. Kemudian untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan banyaknya larva yang mati persatuan waktu (kecepatan kematian) dilakukan uji korelasi Pearson (untuk sebaran data normal) dan uji korelasi Spearman (untuk sebaran data tidak normal atau nonparametrik). Data hasil penelitian akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik menggunakan program statistik komputer (SPSS 15.0 *for Windows*).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Jangka waktu penelitian uji efektivitas larvasida ekstrak ethanol daun mimba (*Azadirachta indica*) selama 7 hari berdasar uji pendahuluan dan melihat perubahan morfologi dari larva *Aedes aegypti* mengamati salah satu efek azadirachtin itu sendiri sebagai ecdison blocker. Data primer yang didapat dengan analisis probit untuk mengetahui LC_{50} dan LT_{50} dari setiap kelompok uji.

Tabel 4. Data kematian larva *Aedes aegypti* per 12 jam.

Jam	Konsentrasi ekstrak ethanol daun mimba														
	0 g/L (kontrol)			2,5 g/L			5 g/L			10 g/L			20 g/L		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	1	2	5	2
24	0	0	0	0	0	0	3	4	3	4	2	3	16	21	14
36	0	0	0	0	1	0	4	4	3	6	5	6	20	23	19
48	0	0	0	0	3	1	6	6	5	10	8	9	22	23	21
60	0	0	0	2	4	2	8	7	7	12	9	9	23	23	21
72	0	0	0	2	5	3	11	12	9	12	11	9	23	23	22
84	0	0	0	2	6	3	11	12	9	13	12	9	25	25	23
96	0	0	0	3	6	4	12	12	9	15	13	10	25	25	24
108	0	0	0	4	6	5	12	13	9	15	14	11	25	25	24
120	0	0	0	4	7	5	12	13	12	16	15	12	25	25	24
132	0	0	0	4	7	5	13	15	13	17	17	13	25	25	24
144	0	0	0	5	8	6	13	15	13	18	17	15	25	25	24
156	0	0	0	6	8	7	14	15	13	18	18	15	25	25	24
168	0	0	0	6	9	7	16	15	14	19	20	17	25	25	24

Keterangan : R1 : Replikasi Satu

R2 : Replikasi Dua

R3 : Replikasi Tiga

Tabel 5. Hasil analisis probit LC₅₀ dan LT₅₀ untuk ekstrak ethanol daun mimba yaitu.

	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
LC ₅₀ (g/L)	8,326	4,255	18,769
LT ₅₀ (jam)	103,206	92,524	115,219

Tabel 6. Kecepatan kematian larva *Aedes aegypti* (ekor/jam)

Jam	Konsentrasi ekstrak ethanol daun mimba			
	2,5 g/L	5 g/L	10 g/L	20 g/L
0	0	0	0	0
12	0	0,1667	0,2500	0,7500
24	0	0,4167	0,7500	2,1250
36	0,0278	0,3056	0,4722	1,7222
48	0,0833	0,3542	0,5625	1,3750
60	0,1333	0,3667	0,5000	1,1167
72	0,1389	0,4444	0,4444	0,9444
84	0,1309	0,3809	0,4048	0,8690
96	0,1354	0,3437	0,3958	0,7708
108	0,1389	0,3148	0,3704	0,6825
120	0,1333	0,3083	0,3583	0,6167
132	0,1212	0,3106	0,3561	0,5606
144	0,1319	0,2847	0,3472	0,5139
156	0,1346	0,2692	0,3269	0,4743
168	0,1309	0,2678	0,3333	0,4405

BAB V

PEMBAHASAN

Dari analisis Probit (Lampiran 1 dan 2) didapatkan nilai LC_{50} 8,326 g/L dan LT_{50} 103,206 jam. Didapatkan dari uji regresi dari LC_{50} terhadap probit (Lampiran 3) dan uji regresi LT_{50} terhadap probit (Lampiran 4), ekstrak ethanol daun mimba dinyatakan dapat membunuh larva *Aedes aegypti*.

Hasil Uji Normalitas Kolomogorv-Smirnov (Lampiran 5) terhadap jumlah kematian larva *Aedes aegypti* persatuan waktu (kecepatan kematian). Data ini di dapat dari jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati di tiap kelompok konsentrasi dengan waktu setiap penghitungan (12 jam). Didapatkan hasil sebaran data yang normal data dari konsentrasi 10 g/L yaitu $p=0,070$ ($p \geq 0,05$) dan 20 g/L yaitu $p=0,200$ ($p \geq 0,05$), sedangkan konsentrasi 2,5g/L nilai $p=0,000$ ($p \leq 0,05$) dan 5 g/L nilai $p=0,020$ ($p \leq 0,05$) maka dinyatakan sebaran data tidak normal. Uji Hipotesis dilanjutkan dengan Uji Korelasi Pearson (Lampiran 5) untuk konsentrasi 10g/L dan 20 g/L didapatkan perbedaan yang tidak bermakna ($p \geq 0,05$). Pada konsentrasi 2,5g/L dan 5 g/L dilakukan Uji Korelasi Nonparametrik Spearman (Lampiran 2) pada konsentrasi 2,5 g/L memiliki perbedaan bermakna ($p \leq 0,05$), pada konsentrasi 5 g/L memiliki perbedaan yang tidak bermakna ($p \geq 0,05$). Dari hasil uji korelasi, dapat dinyatakan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara kenaikan konsentrasi ekstrak ethanol daun mimba dan jumlah larva *Aedes aegypti* persatuan waktu. Merujuk dari kedua hasil uji statistik yang telah dilakukan, bisa dikatakan bahwa ekstrak ethanol daun mimba (*Azadirachta indica*) tidak efektif membunuh larva *Aedes aegypti*. Hal ini mungkin dikarenakan oleh :

1. Ekstrak ethanol daun mimba yang tidak terstandar.

Ekstrak ethanol daun mimba (*Azadirachta indica*) yang tidak terstandar menyebabkan tidak jelasnya kualitas dari ekstrak ethanol daun mimba itu sendiri.

Standardisasi dalam kefarmasian tidak lain adalah serangkaian parameter prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi syarat standar (kimia, biologi dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya.²⁷

Faktor yang berpengaruh pada mutu ekstrak, yaitu :

3. Faktor biologi : spesies, lokasi tumbuhan asal, periode pemanenan tumbuhan, penyimpanan bahan tumbuhan, umur tumbuhan dan bagian yang digunakan.²⁷
4. Faktor kimia :
 - a. Faktor internal : jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif dan kuantitatif senyawa aktif serta kadar total rata-rata senyawa aktif.²⁷
 - b. Faktor eksternal : metode ekstraksi, perbandingan ukuran alat ekstraksi (diameter dan tinggi alat), ukuran bahan, kekerasan bahan, kekeringan bahan, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat dan kandungan pestisida.²⁷

Parameter dan metode uji ekstrak, terdiri dari :

- a. Parameter Nonspesifik : susut pengeringan dan bobot jenis, kadar air, kadar abu, sisa pelarut, residu pestisida, cemaran logam berat dan cemaran mikroba.²⁷
- b. Parameter Spesifik : identitas, organoleptik dan senyawa pelarut dalam pelarut tertentu.²⁷
- c. Uji Kandungan Kimia Ekstrak : Pola kromatogram, Kadar total golongan kandungan kimia (penetapan kadar minyak atsiri, steroid, tannin,

flavonoid, triterpenoid/saponin, alkaloid, atau antrakonin), dan kadar kandungan kimia tertentu.²⁷

Pengujian dan pemeriksaan persyaratan parameter standar umum ekstrak mutlak harus dilakukan dan berpegang pada manajemen pengendalian mutu eksternal oleh badan formal atau/dan badan indepen.²⁷ Karena keterbatasan sarana, uji ekstrak tidak dilakukan. Sehingga tidak didapatkan ekstrak yang terstandar.

2. Kekurangan variasi konsentrasi.

Hanya empat variasi konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini. Sebaiknya kelompok perlakuan ditambah. Sehingga variasi konsentrasi menjadi lebih banyak, dapat menambah variasi data yang ada. Diharapkan akan didapatkan hasil penelitian yang bermakna secara statistik.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) tidak efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti*. Meskipun memiliki nilai LC_{50} dan LT_{50} tetapi tidak ada hubungan yang bermakna menurut uji statistik antara peningkatan konsentrasi ekstrak dengan jumlah larva yang mati persatuan waktu.

SARAN

Sebaiknya dilakukan penelitian serupa dengan variasi konsentrasi yang lebih tinggi dan dengan ekstrak yang telah terstandar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ndione RD, Faye O, Ndiaye M, Dieye A., and Afoutou JM. Toxic effects of neem products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 larvae. In African Journal of Biotechnology Vol. 6 (24), pp. 2846-2854, 17 December, 2007.
2. Djallalluddin, Hasni HB, Riana W, Lisda H . Artikel Penelitian : “Gambaran Penderita Pada Kejadian Luar Biasa Demam Berdarah Dengue Di Kabupaten Banjar Dan Kota Banjarbaru Tahun 2001”. Banjar.2001
3. Daniel. “Ketika Larva dan Nyamuk Dewasa Sudah Kebal Terhadap Insektisida”. FARMACIA Vol.7 No.7. 2008.
4. Okumu FO, Knols BGJ and Fillinger U. “Larvacidal Effect of a Neem (*Azadirachta indica*) oil formulation on the malaria vector *Anopheles gambiae*”. Malaria Journal 2007; 6 : 63
5. United States Enviromental Protection Agency. “Temephos Facts”. July 2001
6. Raharjo B. “Uji Kerentanan (Susceptibility test) *Aedes aegypti* (Linnaeus) dari Surabaya, Palembang dan Beberapa Wilayah di Bandung terhadap Larvasida Temephos (Abate 1 SG)”.Skripsi Sarjana. Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB.2006
7. Website Sentra Informasi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.“Daun Mimba (*Azadirachta indica*)”. 2005
8. Kardiman A dan Dhalimi A. “MIMBA (*Azadirachta indica* A.Juss) TANAMAN MULTI MANFAAT”. Perkembangan Teknologi TRO Vol. XV, No. 1, 2003
9. Kardiman A. ”Mimba (*Azadirachta indica*) Bisa Merubah Perilaku Hama”. Sinar Tani Edisi 29 Maret – 4 April 2006
10. Cornborough J. “Neem (*Azadirachta indica* A. Juss), a Tree of the 21st Century”.

11. HDRA – the organic organization. “Neem Tree”. United Kingdom. 1998.
12. Sudarto. “Atlas Entomologi Kedokteran”. 1972. EGC. Jakarta
13. Iskandar A. “Pemberantasan Serangga dan Binatang Pengganggu”. Proyek pengembangan Pendidikan Tenaga Sanitasi Pusat. Pusdiknes Depkes RI. 1985.
14. Kusnindar. “Pemberantasan Penyakit Demam berdarah Ditinjau dari Berbagai Penelitian”. *Cermin Dunia Kedokteran*. 1990 ; 60 : 10
15. Hendratno S. “Panduan Kuliah Mahasiswa Entomologi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro” : 39. Di dalam pers.
16. Poorwosudarmo S. “Demam Berdarah Dengue pada Anak”. Jakarta. UI Press : 24. 1993
17. Indonesia Forest Seed Project. “Informasi Singkat Benih (*Azadirachta indica* A. Juss)”. 2001
18. Sukrasno dan Tim Lentera. “Mimba, Tanaman Obat Multifungsi”. AgroMedia. Jakarta
19. Teknologi Tepat Guna. “KETAHANAN PANGAN & KESEHATAN” [cited February 1]. Available online at :

http://www.smecca.com/TEKNOLOGI%20TEPAT%20GUNA/TTG_PANGAN_KESEHATAN/artikel/ttg_tanaman_obat/depkes/buku2/2-034.pdf
20. Integrated Taxonomic Information System, National Museum of Natural History, Washington, D.C. 2005
21. The Bay Science Foundation. “*Azadirachta indica* (Burmese Neem Tree)”. 2008 .
22. Rukmana R dan Yuniarsih Y. “Nimba, Tanaman Penghasil Pestisida Alami”. Kanisius . Jakarta
23. Csurhes S. “Pest plant risk assessment, Neem Tree (*Azadirachta indica*)”. Department of Primary Industries and Fisheries, Queensland, Australia. 2008

24. Ofusori DA, Falana BA, Adebimpe E. Adelakun, Ezekiel A. Caxton-Martins: Gastroprotective effect of aqueous extract of neem *Azadirachta indica* on induced gastric lesion in rats. *The Internet Journal of Gastroenterology*. 2008. Volume 7 Number 1
25. Chattopadhyay RR and Bandyopadhyay M. "Effect of *Azadirachta indica* Leaf Extract on Serum Lipid Profile Changes in Normal and Streptozotocin Induced Diabetic Rats". *African Journal of Biomedical Research*, Vol. 8 (2005); 101 - 104
ISSN 1119 – 5096 © Ibadan Biomedical Communications Group
26. Samsudin. "Azadirachtin Metabolit Sekunder dari Tanaman Mimba sebagai Bahan Insektisida Botani". Lembaga Pertanian Sehat. November 2008
27. Depkes RI, Dirjen POM. "Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat". Jakarta. 2000: 2, 6-8, 13-38
28. U.S. Enviromental Protection Agency. "Larvasides for Mosquito Control". U.S. 2007.
29. Warta Medika. "Abate: Amankah untuk tubuh?". November 2006.
30. WHO, International Programme on Chemical Safety. "Temephos".1975.
31. American Cynamide Co. Abate Larvacide. Cynamide Agricultural Division. America Cynamide Co. Pronceton, New Jersey
32. O'Brian RD. "Insecticides Action and Metabolism". Academic Press. New York and London. 1967
33. Notoatmodjo S. "Metodologi Penelitian Kesehatan". Jakarta. 2002
34. Bagian Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Buku petunjuk praktikum farmakologi I. Edisi keempat. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, 2005: 5
35. Dorland, W.A.Newman. Kamus Kedokteran Dorland. Edisi 29. Jakarta: EGC, 2002: 669

36. Polaquini SR, Svidzinski TI, Kemmelmeier C, Gasparetto A. "Effect of aqueous extract from Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on hydrophobicity, biofilm formation and adhesion in composite resin by *Candida albicans*". PubMed Journal. PMID : 16412377. Abstract

Lampiran 1

Hasil analisis probit LC₅₀ larutan ekstrak ethanol daun mimba terhadap larva *Aedes aegypti*

Data Information

		N of Cases
Valid		5
Rejected	Missing	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		1

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	11	Yes

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a Konsentrasi	.176	.017	10.431	.000	.143	.209
Intercept	-1.466	.133	-10.982	.000	-1.600	-1.333

a. PROBIT model: PROBIT(p) = Intercept + BX

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^a	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	19.618	3	.000 ^b

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is less than .150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Cell Counts and Residuals

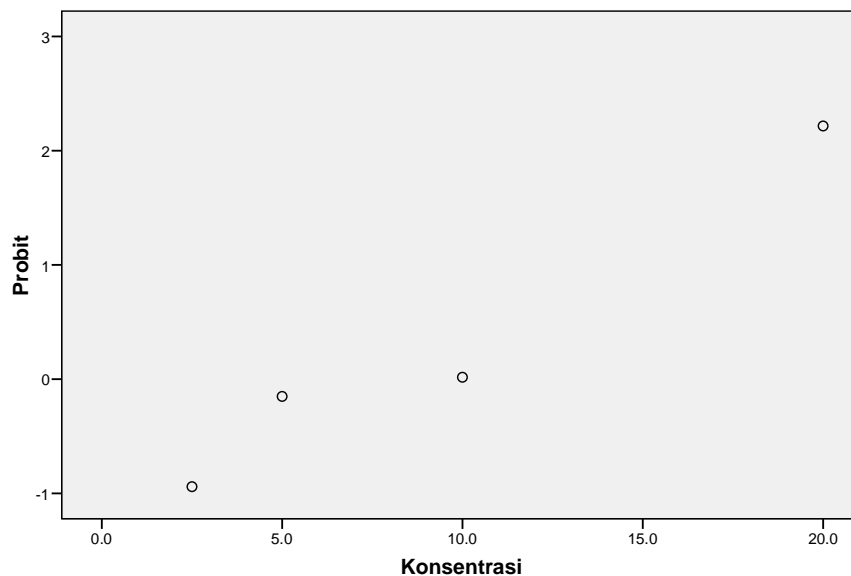
	Number	Konsentrasi	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	.000	75	0	5.349	-5.349	.071
	2	2.500	75	13	11.437	1.563	.152
	3	5.000	75	33	20.930	12.070	.279
	4	10.000	75	38	46.195	-8.195	.616
	5	20.000	75	74	73.507	.493	.980

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	-4.886	-45.305	.801
	.020	-3.338	-38.384	1.793
	.030	-2.356	-34.014	2.443
	.040	-1.617	-30.741	2.947
	.050	-1.016	-28.091	3.369
	.060	-.504	-25.846	3.739
	.070	-.055	-23.887	4.072
	.080	.346	-22.142	4.380
	.090	.711	-20.563	4.668
	.100	1.048	-19.118	4.942
	.150	2.440	-13.253	6.192
	.200	3.546	-8.805	7.399
	.250	4.495	-5.249	8.695
	.300	5.348	-2.377	10.179
	.350	6.137	-.085	11.924
	.400	6.887	1.715	13.955
	.450	7.612	3.126	16.250
	.500	8.326	4.255	18.769
	.550	9.039	5.193	21.479
	.600	9.765	6.006	24.372
	.650	10.514	6.744	27.465
	.700	11.304	7.443	30.803
	.750	12.156	8.134	34.469
	.800	13.105	8.850	38.604
	.850	14.212	9.636	43.474
	.900	15.604	10.573	49.652
	.910	15.940	10.793	51.150
	.920	16.305	11.030	52.780
	.930	16.707	11.288	54.575
	.940	17.156	11.574	56.582
	.950	17.667	11.897	58.874
	.960	18.268	12.272	61.570
	.970	19.007	12.729	64.890
	.980	19.989	13.330	69.310
	.990	21.537	14.264	76.289

a. A heterogeneity factor is used.

Probit Transformed Responses



Lampiran 2

Hasil analisis probit LT₅₀ larutan ekstrak ethanol daun mimba terhadap larva *Aedes aegypti*

Data Information

			N of Cases
Valid			15
Rejected	Missing		0
	Number of Responses > Number of Subjects		0
Control Group			1

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	9	Yes

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a Jam	.012	.001	14.771	.000	.011	.014
Intercept	-1.289	.087	-14.893	.000	-1.375	-1.202

a. PROBIT model: PROBIT(p) = Intercept + BX

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^a	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	30.195	13	.004 ^b

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is less than .150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Cell Counts and Residuals

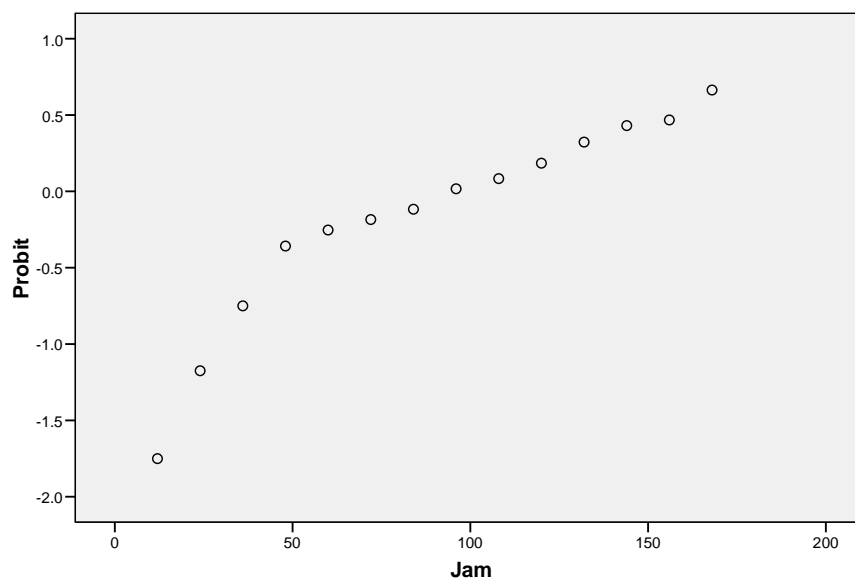
	Number	Jam	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	.000	75	0	7.408	-7.408	.099
	2	12.000	75	3	9.555	-6.555	.127
	3	24.000	75	9	12.101	-3.101	.161
	4	36.000	75	17	15.053	1.947	.201
	5	48.000	75	27	18.400	8.600	.245
	6	60.000	75	30	22.109	7.891	.295
	7	72.000	75	32	26.131	5.869	.348
	8	84.000	75	34	30.393	3.607	.405
	9	96.000	75	38	34.812	3.188	.464
	10	108.000	75	40	39.290	.710	.524
	11	120.000	75	43	43.728	-.728	.583
	12	132.000	75	47	48.029	-1.029	.640
	13	144.000	75	50	52.105	-2.105	.695
	14	156.000	75	51	55.883	-4.883	.745
	15	168.000	75	56	59.305	-3.305	.791

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Jam		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a .010	-83.120	-134.359	-50.033
.020	-61.287	-106.462	-31.979
.030	-47.434	-88.793	-20.495
.040	-37.013	-75.522	-11.835
.050	-28.537	-64.743	-4.774
.060	-21.322	-55.582	1.249
.070	-14.996	-47.563	6.543
.080	-9.332	-40.393	11.294
.090	-4.180	-33.883	15.625
.100	.562	-27.901	19.623
.150	20.194	-3.269	36.309
.200	35.797	16.076	49.801
.250	49.184	32.407	61.642
.300	61.205	46.752	72.597
.350	72.344	59.651	83.141
.400	82.915	71.428	93.610
.450	93.141	82.315	104.247
.500	103.206	92.524	115.219
.550	113.271	102.279	126.646
.600	123.498	111.813	138.634
.650	134.068	121.367	151.326
.700	145.207	131.197	164.940
.750	157.229	141.614	179.823
.800	170.615	153.052	196.556
.850	186.218	166.241	216.206
.900	205.851	182.691	241.073
.910	210.592	186.647	247.097
.920	215.744	190.938	253.647
.930	221.408	195.651	260.855
.940	227.734	200.906	268.913
.950	234.949	206.892	278.112
.960	243.425	213.915	288.928
.970	253.846	222.536	302.238
.980	267.699	233.980	319.948
.990	289.533	251.985	347.893

a. A heterogeneity factor is used.

Probit Transformed Responses



Lampiran 3

Hasil uji regresi pengaruh LC₅₀ terhadap probit

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Konsentrasi ^a	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Probability

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.992 ^a	.985	.980	.053420

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.557	1	.557	195.169	.001 ^a
	Residual	.009	3	.003		
	Total	.566	4			

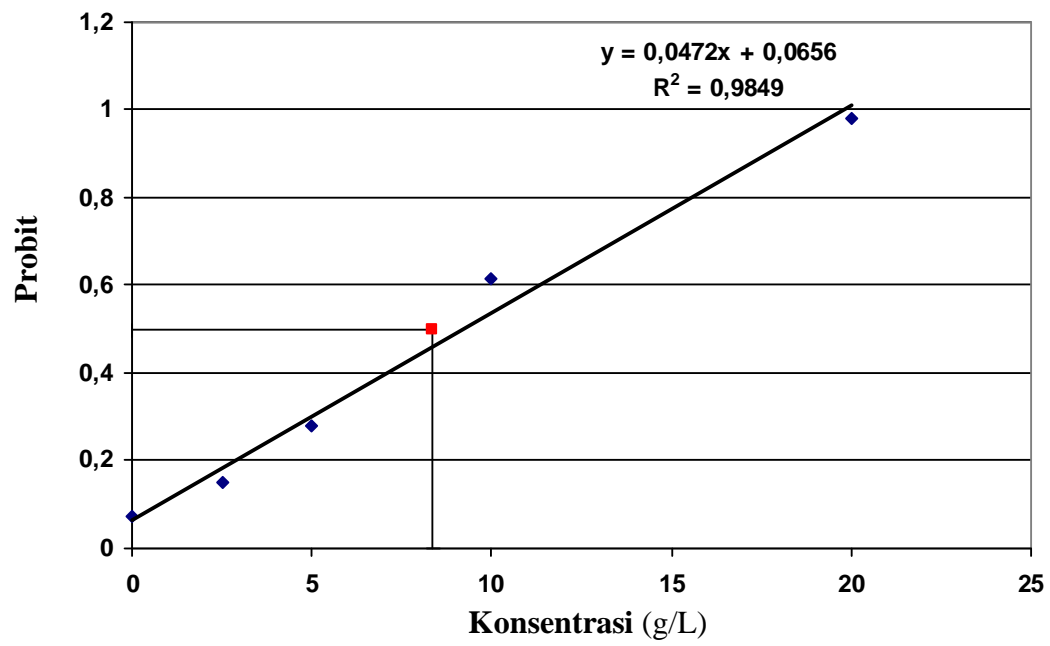
a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

b. Dependent Variable: Probability

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.0656	.035		1.884	.156
	Konsentrasi	.0472	.003	.992	13.970	.001

a. Dependent Variable: Probability



Gambar 5. Grafik Regresi LC₅₀ dari ekstrak ethanol daun mimba.

$$y = 0,0472x + 0,0656. R^2 = 0,9849.$$

Lampiran 4

Hasil Uji Regresi Pengaruh LT_{50} terhadap probit

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Jam ^a	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Probability

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.997 ^a	.994	.994	.018447

a. Predictors: (Constant), Jam

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.758	1	.758	2226.843	.000 ^a
	Residual	.004	13	.000		
	Total	.762	14			

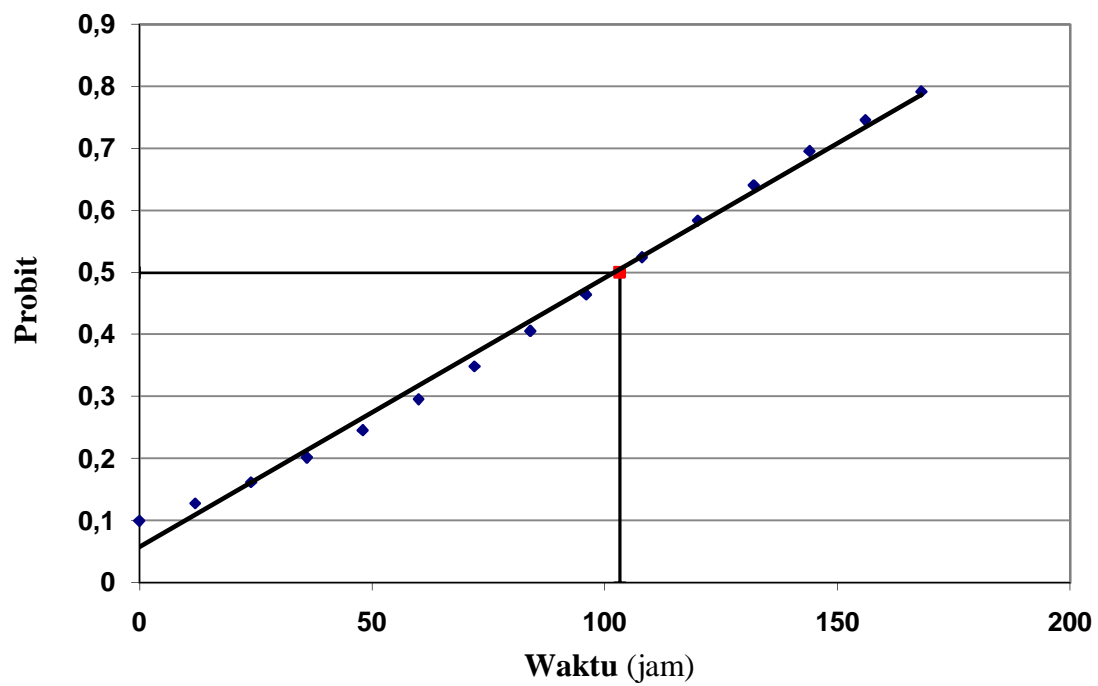
a. Predictors: (Constant), Jam

b. Dependent Variable: Probability

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.0574	.009		6.328	.000
	Jam	.0043	.000	.997	47.189	.000

a. Dependent Variable: Probability



Gambar 6. Grafik Regresi LT₅₀ dari ekstrak ethanol daun mimba.

$$y = 0,0043x + 0,0574. R^2 = 0,9942.$$

Lampiran 5

Hasil Uji korelasi terhadap konsentrasi dengan jumlah larva yang mati per satuan waktu

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jam	.082	15	.200*	.964	15	.755
2.5 g/L	.336	15	.000	.693	15	.000
5 g/L	.240	15	.020	.857	15	.022
10 g/L	.211	15	.070	.916	15	.167
20 g/L	.174	15	.200*	.920	15	.193

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Korelasi Nonparametrik Spearman

Correlations

			Jam	2.5 g/L	5 g/L
Spearman's rho	Jam	Correlation Coefficient	1.000	.591*	-.121
		Sig. (2-tailed)	.	.020	.666
		N	15	15	15
	2.5 g/L	Correlation Coefficient	.591*	1.000	.329
		Sig. (2-tailed)	.020	.	.231
		N	15	15	15
	5 g/L	Correlation Coefficient	-.121	.329	1.000
		Sig. (2-tailed)	.666	.231	.
		N	15	15	15

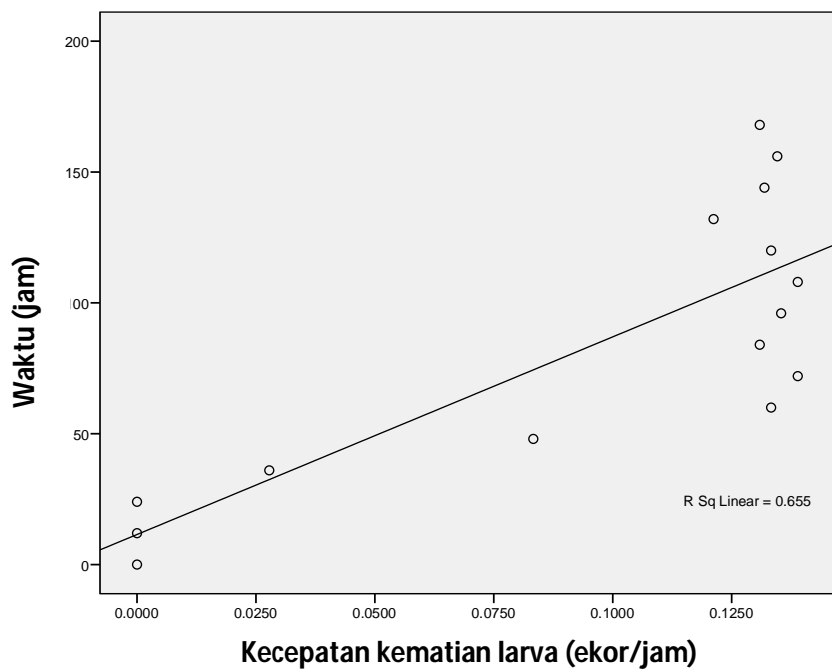
*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Uji Korelasi Pearson

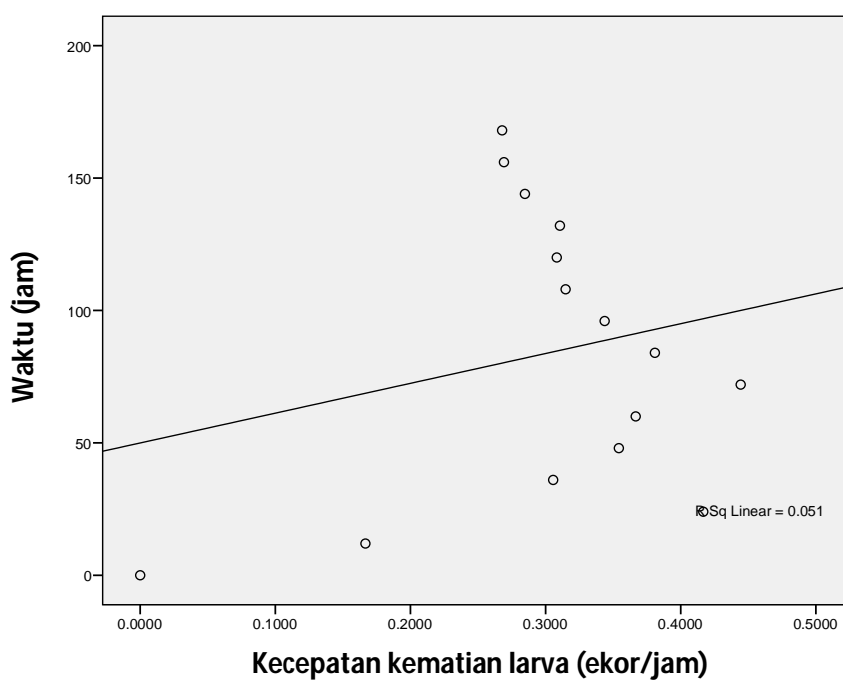
Correlations

		Jam	10 g/L	20 g/L
Jam	Pearson Correlation	1	-.060	-.432
	Sig. (2-tailed)		.832	.108
	N	15	15	15
10 g/L	Pearson Correlation	-.060	1	.889**
	Sig. (2-tailed)	.832		.000
	N	15	15	15
20 g/L	Pearson Correlation	-.432	.889**	1
	Sig. (2-tailed)	.108	.000	
	N	15	15	15

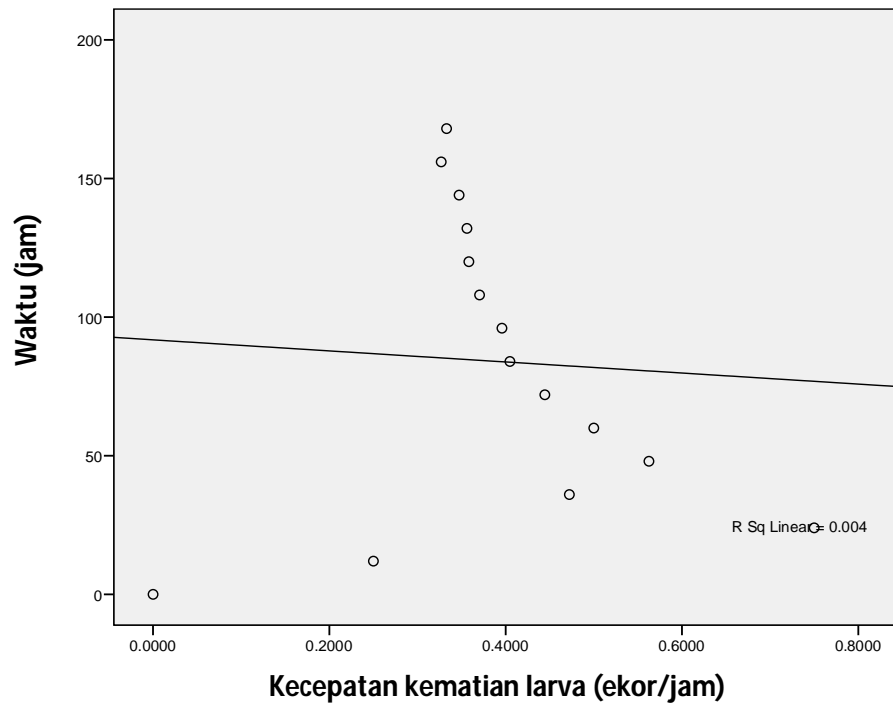
** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



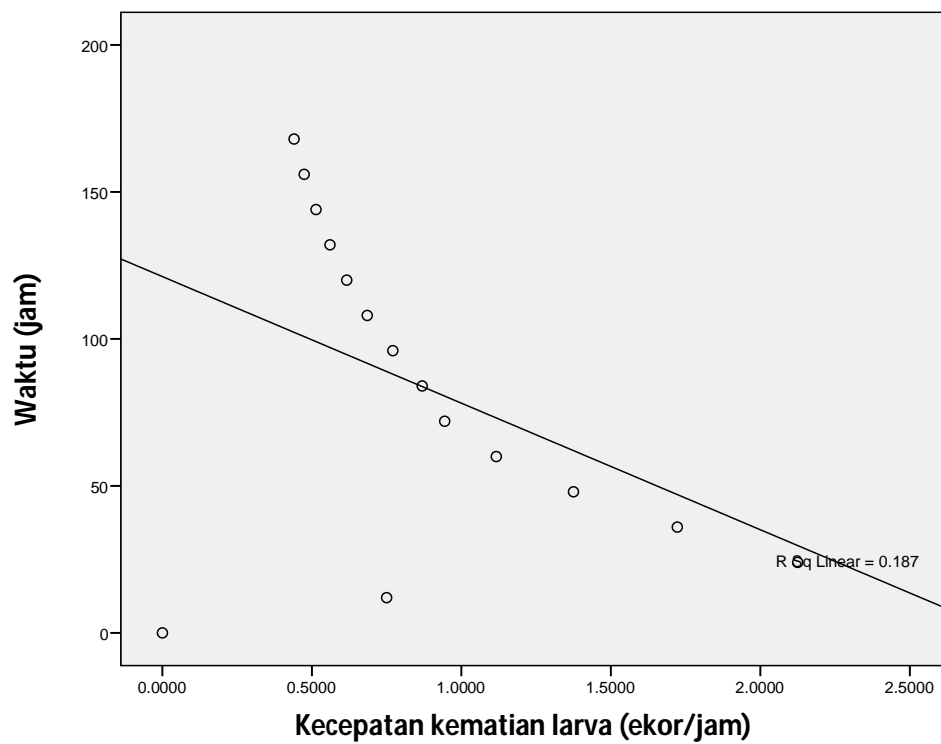
Gambar 7. Grafik Uji Korelasi Spearman untuk Konsentrasi 2,5 g/L



Gambar 8. Grafik Uji Korelasi Spearman untuk Konsentrasi 5 g/L



Gambar 9. Grafik Uji Korelasi Pearson untuk Konsentrasi 10 g/L



Gambar 10. Grafik Uji Korelasi Pearson untuk Konsentrasi 20 g/L

Lampiran 6

Hasil Identifikasi Tumbuhan Mimba (*Azadirachta indica*)



**DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM JURUSAN BIOLOGI**

Alamat: Gedung D11 FMIPA UNNES Kampus Sekaran Gunungpati Semarang 50229

Semarang, 17 April 2009

No. : 264/H.37.1.4.5/PP/2009
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi tumbuhan

Kepada Yth.
Sdr. ASHRY SHIKKA ARADILLA – NIM. G2A.005028
Mahasiswa Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro
Semarang

Dengan hormat,

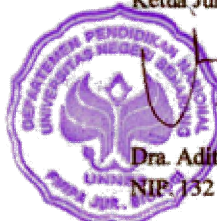
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi-FMIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES), adalah sebagai berikut.

Divisio : Magnoliophyta
Classis : Magnoliopsida
SubClassis : Rosidae
Ordo : Sapindales
Familia : Meliaceae
Genus : *Azadirachta*
Species : *Azadirachta indica* Juss.

Vern. name : Nimba

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi



Dra. Aditya Marianti, M.Si.
NIP. 132 046 851

Kepala Lab. Biologi

Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si.
NIP. 131 909 216

Lampiran 7

Surat Keterangan Telur *Aedes aegypti*



DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN VEKTOR DAN RESERVOIR PENYAKIT

Jl. HASANUDDIN NO. 133 PO. BOX 200
SALATIGA 50721

Fax. (0298) 322004 ; 312107
Telp. (0298) 327096 ; 312107
E-mail : vektor@indo.net.id



SURAT KETERANGAN

Nomor : PM.02.15/VII/ / 2009

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Drs Hasan Boesri, MS.
NIP : 195607041986031001
Jabatan : Kepala Bidang Pelayanan Penelitian di Balai Besar
Penelitian dan Pengembangan Vektor dan
Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga.

Menyatakan bahwa telur yang diberikan adalah telur *Ae.aegypti*, koloni dari
Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit
(B2P2VRP) Salatiga.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dipergunakan seperlunya.

Salatiga, 20 Mei 2009
a.n. Kepala Balai Besar Penelitian dan
Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit
Kepala Bidang Pelayanan Penelitian



Drs Hasan Boesri, MS
NIP.195607041986031001

Lampiran 8

Hasil Ekstraksi Ethanol Daun Mimba:

Berat Basah Daun Mimba : 749,2 gram

Alkohol (Ethanol) yang dibutuhkan : 6500 mL

Ekstak yang dihasilkan : 76,4118 gram